

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

気道障害性を指標とする室内環境化学物質のリスク評価手法の開発に関する研究

気道障害性にかかる情報収集及び優先順位判定のための情報収集

研究分担者 小野 敦 岡山大学・医歯薬学総合研究科 教授  
研究協力者 山口治子 国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部  
研究協力者 平岡結実 岡山大学・薬学部

研究要旨

本研究では生活環境を経由して暴露される可能性のある化学物質のうち室内環境汚染による健康影響が危惧される化学物質の詳細評価に向けた優先順位付けのためのハザード情報及び関連情報の網羅的スクリーニング調査を目的とした研究を実施した。平成 27 年度は、網羅的スクリーニング調査に先立って、気道障害性に関わるハザード情報収集に有用と考えられる情報源について調査を行い、最も網羅性が高く情報が充実していると判断された情報源の一つである我が国の GHS 分類情報（JP-GHS）をもとにヒト健康に対する有害性 10 項目の分類結果や分類の根拠となった情報をデータベース化して、気道障害性（気道刺激性及び気道感作性）に基づく分類がされた化学物質を抽出した。平成 28 年度は、JP-GHS データベースをもとに気道感作性を対象として、関連する有害作用である皮膚感作性等との関連性や化学構造との関連に着目した解析を実施して、気道感作性について情報のない物質であっても、皮膚感作性に関する情報と化学構造から気道感作性評価のための優先順位付けスクリーニングの可能性が示された。さらに平成 29 年度は、気道刺激性に着目して、皮膚や眼刺激性情報と気道刺激性との関連や、物理化学的性質や構造記述子を組合せた、気道刺激性情報のない化学物質についての詳細評価の優先順位付けスクリーニングを行うための予測モデル構築を行った。

A. 研究目的

本研究では生活環境を経由して暴露される可能性のある化学物質のうち室内環境汚染による健康影響が危惧される化学物質の詳細評価に向けた優先順位付けのためのハザード情報の網羅的な収集、及び気道障害

性に関するハザード情報が得られていない物質について関連情報による補完を目的とした経気道曝露によるハザードのスクリーニング調査による化学物質の優先順位付けを目的とした研究を実施した。まず始めに、気道障害性の網羅的スクリーニング調査に

有用と考えられる各種情報源の調査を実施して、情報源のうち最も網羅性が高く情報が充実していると判断された情報源の一つである我が国の GHS 分類情報 (JP-GHS) を対象として、気道刺激性や気道感作性に関連する情報が得られた化学物質の網羅的収集をした結果、気道障害性についてはガイドライン化された試験法がないことから主に産業暴露などによるヒトにおける障害報告により区分されており、ヒトでの報告がない物質についての気道障害性の有無は不明なままであることが明らかとなった。そのため、気道障害性について情報の無い化学物質について、関連するヒト健康影響情報や化学構造等から、詳細評価のための優先順位付けの可能性について検討を行うため、JP-GHS 情報をデータベース化して解析を行い、気道感作性については、皮膚感作性と化学構造との関連に着目した解析を、気道刺激性については皮膚や眼刺激性と物理化学的性質等との関連に着目した解析を行った。

## B. 研究方法

### 1、気道障害性詳細評価に向けた優先順位付けに有用な情報源の調査

網羅的スクリーニング調査に先立って、気道障害性に関わるハザード情報収集に有用と思われる情報源について、その概要と気道障害性評価において検索対象となる登録情報及び本年度の研究班における評価対象物質である 2-エチルヘキサノール (CAS No. 104-76-7)、2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate (Texanol<sup>TM</sup>) (CAS No. 25265-77-4)、2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIB<sup>TM</sup>) (CAS No. 6846-50-0)

についての情報源における登録情報について整理した。

### 2、我が国の GHS 分類評価結果 (JP-GHS) をもとにした気道障害性 (気道刺激性及び気道感作性) 物質の網羅的スクリーニング

我が国の GHS 分類評価結果 (JP-GHS) をもとに気道障害性 (気道刺激性及び気道感作性) 分類がされた物質の検索を行った。本研究での検索対象は、現在、公開されている平成 25 年度までの JP-GHS 分類評価結果とした。JP-GHS 分類結果は、物質ごとにエクセルシートとして公開されている。そこで、まず初めに本研究では、独) 製品評価技術基盤機構ホームページより入手可能な日本政府による GHS 分類結果ファイル入手し、GHS 分類項目のうちヒト健康に対する有害性 10 項目について横断検索可能な簡易データベースを構築した。構築したデータベースをもとに気道障害性評価の優先順位付けに有用な項目として気道刺激性、気道感作性の分類が示された物質の検索を行った。

### 3、気道感作性についての知見のない物質の関連情報と化学構造等からのスクリーニング予測評価の検討

構築した JP-GHS データベースを用いて、気道障害性に関する区分がなされている物質について、詳細評価の優先順位付けのため気道障害性分類の根拠となった知見の詳細について解析を進めるとともに、関連する有害作用である皮膚感作性及び皮膚刺激性について情報を整理するとともに化学構造分類を実施して、気道障害性との関連の解析及び知見の無い物質について気道感作性の

詳細評価優先順位付けのためのスクリーニング評価への適用性について検討を行った。

#### 4、気道刺激性についての知見のない物質の関連情報と化学構造等からのスクリーニング予測評価の検討

気道刺激性に着目して、GHS 分類結果の 3815 物質のうち、刺激性について報告のある物質と報告のない物質を組み合わせたデータセットから金属元素を含む物質(115 物質)、ハロゲン元素を含む物質(191 物質)を除外した 291 物質を対象として、気道刺激性と目および皮膚刺激性の重複、物理化学的性質や構造記述子を用いた予測モデル構築を行った。構造記述子の計算には PaDEL Descriptor を用い、物理化学的性質は、Chemid plus 及び PubChem で検索して得られた情報を用いた。気道刺激性との関連解析および予測モデルには KNIME を用いた。

### C. 研究結果と考察

#### 1、気道障害性詳細評価に向けた優先順位付けに有用な情報源の調査

JP-GHS 分類では、健康に対する有害性以外に物理化学的危険性、環境に対する有害性についての分類結果が根拠情報ともに入手可能であった。気道障害性に関連する情報としては、健康に対する有害性分類の中で呼吸器への単回暴露毒性、気道刺激性および気道感作性の情報が利用可能である。気道障害性についての分類は、主に産業暴露等におけるヒトのデータに基づいて分類されていた。研究班の取り組み 4 物質について JP-GHS では、2-エチルヘキサノールについては、健康に対する有害性のうち項目 8：特定標的臓器毒性（単回暴露）において

区分 3（気道刺激性）及び区分 2（呼吸器）と分類されていた。さらに、2-エチルヘキサノールの物理学的危険性の GHS による分類においては、常温においては液体（引火点 73℃の可燃性液体）でありエアロゾルではない。なお、他の 2 物質の情報はない。スクリーニング対象物質の網羅性を検証するため日本産業衛生学会及び ACGIH で評価が行われた物質のうち JP-GHS 分類されていない物質を検索した結果、大半の物質は JP-GHS 分類評価済みであり、またその分類においては、日本産業衛生学会や ACGIH が引用されていることから JP-GHS を基礎データとすることで十分な網羅性を担保出来ると判断された。

2、我が国の GHS 分類評価結果 (JP-GHS) をもとにした気道障害性（気道刺激性及び気道感作性）物質の網羅的スクリーニング JP-GHS データをもとに 2820 物質の情報をデータベース化した。気道刺激性については、健康に対する有害性のうち項目 8：特定標的臓器毒性（単回暴露）において区分 3(気道刺激性)もしくは区分 1(呼吸器)と分類された物質を抽出した結果、1075 物質が抽出された。一方、気道感作性については、健康に対する有害性のうち項目 4：呼吸器感作性について区分 1 と分類された物質を抽出した結果、96 物質が該当した。また、気道感作性 96 物質のうち 86 物質については、気道刺激性物質にも分類されており気道感作性のみで分類された物質は 10 物質であった。次に室内環境汚染の可能性の高い物性として、常温における物質性状について GHS 分類情報をもとに気体であるとされている物質に絞り込みを行った結

果、気道刺激性 131 物質、気道感作性 4 物質が抽出された。ただし、気道感作性分類により抽出された 4 物質は、いずれも気道刺激性により抽出された 131 物質に含まれた。抽出された常温で気体の気道刺激性物質 131 物質のうち 74 物質については、JP-GHS 分類根拠においてヒトでのエビデンスが記載されており、これらについては室内環境汚染評価の優先順位の高い物質と考察された。感作性については、皮膚感作性が示されている物質については、気道感作性の懸念もあると考えられることから皮膚感作性区分 1 と分類された物質を抽出した結果、405 物質が抽出され、気道感作性 96 物質のうち 86 物質については、気道感作性及び皮膚感作性いずれも該当した。物質性状について皮膚感作性 405 物質のうち、常温で気体とされている物質は、上述の気道感作性 4 物質を含む 20 物質であり、16 物質については皮膚感作性の分類はされているものの気道感作性の分類はされていなかった。気道感作性に分類されているほとんどの物質が皮膚感作性物質に含まれることから、これらの常温で気体の皮膚感作性 16 物質についても、気道感作性の分類は行われていないものの、気道感作性の懸念が高く室内環境汚染評価の優先候補としてハザード情報の収集を行う必要があると考察された。

### 3、気道感作性についての知見のない物質の関連情報と化学構造等からのスクリーニング予測評価の検討

気道障害性分類根拠の解析から、GHS や ACGIH 等における気道障害性はヒトでの障害発現の報告に基づいて分類されており、

それらの物質について報告された状況下において気道障害性が発現することは、ほぼ明らかである。ただし、一部の物質では産業現場等における特殊条件下での報告によるものも含むため、それらについて室内環境における評価の優先順位は必ずしも高くないと考えられる。一方、気道感作性、気道刺激性については、評価のためのガイドライン試験法が無い場合、ヒトでの障害発現の情報の無い物質についての、障害性の有無については全く不明である。そこで、関連する障害として皮膚感作性、皮膚刺激性についての情報の検索を行った。これら皮膚障害性については、多くの物質についての分類はガイドライン試験法による評価に基づいており、陽性物質とともに陰性物質の検索が可能であった。その結果、気道感作性の報告のある物質の 9 割は皮膚感作性の区分がなされており、さらに皮膚感作性については区分外となっていた物質についても、皮膚腐食性などの関連する障害の区分がなされていた。これらの結果から、皮膚感作性が陽性の物質については気道感作性を有する可能性が高いと考察された。さらに気道感作性もしくは皮膚感作性のある物質を化学構造の特徴で分類を行い、化学構造との関連について解析を行った。その結果、いくつかの化学構造群で、気道・皮膚いずれについても感作性が報告されている物質が多く含まれることが明らかとなった。よって気道感作性の情報が無い物質であっても、これらの化学構造群に含まれる皮膚感作性が報告されている物質については、気道感作性を有する蓋然性が特に高いと考察された。

#### 4、気道刺激性についての知見のない物質の関連情報と化学構造等からのスクリーニング予測評価の検討

気道に対する障害性のうち気道刺激性について、JP-GHS データベースをもとに、気道以外での刺激性との関連および化学物質の構造的特徴や化学的性質を指標とした *in silico* での気道刺激性物質のスクリーニング手法について検討を行った。その結果、気道刺激性の報告がある物質の多くで皮膚刺激性または眼刺激性が陽性であり、特に気道刺激性について報告がある物質のうち、82.63%が眼刺激性陽性であった。このことから、他の部位における刺激性のうち特に眼刺激性を有する物質については、気道刺激性の蓋然性が高いと考察された。一方、化学構造の特徴分類の結果から金属元素またはハロゲン元素を有する物質、エポキシ基またはシアン酸基を有する物質で気道刺激性を惹起する可能性が高いことが示された。一方、化学的性質や構造記述子を用いた解析から、Molweight および Complexity との関連が示され、さらに化学構造と組み合わせた解析によりカルボニル基を有し  $TPSA \leq 46.530$  または  $SlogP \leq 1.984$  である物質およびエーテル結合を有し  $TPSA \leq 29.460$  または  $SlogP \leq 1.043$  である物質で気道刺激性を惹起する可能性が高いことが示された。これらの結果から、刺激性に関する情報の無い物質については、本研究で明らかにされた化学構造的特徴と化学的性質を示す物質について気道刺激性評価の優先順位が高いと考えられた。

#### E. 結論

本研究では、わが国の GHS 分類評価結果

をもとに、気道障害性のうち気道刺激性および関連する可能性のある皮膚刺激性、眼刺激性について網羅的な検索を行い、気道刺激性物質に特徴的な化学構造や化学的性質を明らかにした。

これまでの本研究の結果から、気道感作性については情報のない物質であっても、皮膚感作性に関する情報と化学構造から気道感作性評価のための優先順位付けスクリーニングが可能であることが示された。皮膚感作性については、近年、OECD より皮膚感作性評価のための **Adverse Outcome Pathway(AOP)**及び AOP に基づく評価のための *in vitro* や *in chemico* のガイドライン試験法が整備されており、また OECD QSAR Toolbox には *in silico* 評価を行うためのプロファイラー機能が搭載されており、それらを用いた迅速評価についてガイダンスが示されている。本研究の結果は、気道感作性についても皮膚感作性と同様に AOP に基づく評価の可能性を示すものと考察されることから、今後は気道感作性スクリーニング評価への適用性について検討を進める目的で、OECD QSAR Toolbox の皮膚感作性関連の化学構造プロファイラーや、皮膚感作性 AOP 評価のためのガイドライン試験法の気道感作性物質の詳細評価のための優先順位付けにおける有用性について検討を行い、気道感作性評価に向けた AOP の構築が重要であると結論された。一方、気道刺激性についても関連する情報として眼刺激性や皮膚刺激性の情報と物理化学的性質と構造的性質の2つの観点から特徴を把握することで高い精度でスクリーニング評価が可能であると結論付けられた。最終的にリスク評価のためには、ハザード

情報のみではなく、暴露情報が必要であるが、実際の生活環境における測定結果が得られる物質は、限られていると考えられる。化学物質の用途や使用量に関する情報が得られれば、暴露の可能性のある程度推定出来る可能性もあることから、本研究結果により関連情報や化学構造および物性等から優先順位が高い物質としてリストアップされた物質については、用途情報の収集を行い暴露の可能性のある物質については、生活環境中での暴露実態の測定が望まれる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

小野. 宏, 丸野内. 隼, 井口. 泰泉, 小野. 敦; ER STTA法 : hER $\alpha$ -HeLa-9903細胞を用いたエストロゲン受容体恒常発現系転写活性化試験法の評価報告書 *AATEX-JaCVAM* **6**, 1-27 (2017).

M. Matsumoto, H. Todo, T. Akiyama, M. Hirata-Koizumi, K. Sugibayashi, Y. Ikarashi, A. Ono, A. Hirose and K. Yokoyama ; Risk assessment of skin lightening cosmetics containing hydroquinone.; *Regul Toxicol Pharmacol*, **81**,128–135 (2016)

M. Hirata-Koizumi, R. Ise, H. Kato, T. Matsuyama, T. Nishimaki-Mogami, M. Takahashi, A. Ono, M. Ema and A. Hirose ; Transcriptome analyses demonstrate that Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) activity of an ultraviolet absorber, 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazole, as possible mechanism of their

toxicity and the gender differences.; *J Toxicol Sci*, **41**,(5) 693–700 (2016)

Hirata-Koizumi, M., Fujii, S., Hina, K., Matsumoto, M., Takahashi, M., Ono, A., and Hirose, A., Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in rats: perfluorohexadecanoic acid and perfluorotetradecanoic acid, *Fundam Toxicol Sci.*, **2**(4), 177-190, 2015.

Ono, A., Kobayashi, K., Serizawa, H., Kawamura, T., Kato, H., Matsumoto, M., Takahashi, M., Hirata-Koizumi, M., Matsushima, Y. and Hirose, A., A repeated dose 28-day oral toxicity study of  $\beta$ -bromostyrene in rats. *Fundam. Toxicol. Sci.* **2015.2**, 191-200

Kato, H., Fujii, S., Takahashi, M., Matsumoto, M., Hirata-Koizumi, M., Ono, A. and Hirose, A., Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of perfluorododecanoic acid in rats. *Environ Toxicol* **2015.30**, 1244-1263

### 2. 学会発表

A. Ono, S. Watanabe, T. Sugawara, K. Wakabayashi, Y. Tahara, N. Horie, K. Fujimoto, K. Kusakari, Y. Kurokawa, T. Sozu, T. Nakayama, T. Kusao, T. Kawakami, K. Kojima, H. Kojima, J. Richmond, N. Kleinstreuer, K. Bae-Hwa, Y. Yamamoto, M. Fujita and T. Kasahara :A multi-centre validation study of Amino acid Derivative Reactivity Assay (ADRA) - a novel in chemico alternative test method for skin

- sensitization. *Society of Toxicology 55th Annual meeting* (2018.March, San Antonio, USA)
- 小野 敦, 渡辺 真一, 菅原 経継, 若林 晃次, 田原 宥, 堀江 宣行, 藤本 恵一, 草苺 啓, 黒川 嘉彦, 寒水 孝司, 中山 拓人, 草生 武, 河上 強志, 小島 幸一, 小島 肇, J. Richmond, K. Nicole, K. Bae-Hwa, 山本 裕介, 藤田 正晴, 笠原 利彦 :新規*in chemico*皮膚感作性試験 ADRA法の多施設バリデーション試験 :第2報. *日本実験動物代替法学会 第30回年会* (2017.11, Tokyo)
- A. Ono, Y. Hiraoka, A. Hirose, and H. Jinno :Comparative analysis of respiratory, skin and eye irritation potential of chemicals using Japanese GHS classification.. *The 53rd Eurotox2017* (2017.9, Bratislava, Slovak)
- A. Ono, S. Watanabe, T. Sugawara, K. Wakabayashi, Y. Tahara, N. Horie, K. Fujimoto, K. Kusakari, Y. Kurokawa, T. Sozu, T. Nakayama, T. Kusao, T. Kawakami, K. Kojima, H. Kojima, J. Richmond, N. Kleinstreuer, K. Bae-Hwa, Y. Yamamoto, M. Fujita and T. Kasahara :Phase-1 of the validation study of Amino acid Derivative Reactivity Assay (ADRA): a novel *in chemico* alternative test method of skin sensitization.. *Tenth World Congress Alternatives and Animal Use in the Life Sciences* (2017.8, Washington State Convention Center, Seattle, Washington)
- 小野 敦, 渡辺 真一, 菅原 経継, 若林 晃次, 田原 宥, 堀江 宣行, 藤本 恵一, 草苺 啓, 黒川 嘉彦, 寒水 孝司, 中山 拓人, 草生 武, 河上 強志, 小島 幸一, 小島 肇, J. Richmond, K. Nicole, K. Bae-Hwa, 山本 裕介, 藤田 正晴, 笠原 利彦 :新規*in chemico*皮膚感作性試験 ADRA法の多施設バリデーション試験 :第1報. *第44回日本毒性学会* (2017.7, Yokohama)
- A. Ono, J. Ciloy, M. Matsumoto, M. Takahashi, T. Kawamura and A. Hirose :Development and validation of a QSAR model to classify chemicals for toxic potency of sub-acute repeated dose toxicity. *17th International Conference on QSAR in enviromental and health sciences* (2016.6, Miami Beach, Florida, USA)
- A. Ono, H. Jinno and A. Hirose :Comparative analysis of respiratory and skin sensitization potential of chemicals using Japanese GHS classification.. *The 52nd Eurotox2016* (2016.9, Sevilla, Spain)
- A. Ono, H. Jinno and A. Hirose :Evaluation of the OECD QSAR Toolbox in the screening of chemical sensitizer.. *The 14th International Congress of Toxicology* (2016.10, Merida, Mexico)
- Nishimura, T., Hirata-Koizumi, M., Yamada, T., Kawamura, T., Ono, A., Hirose, A., and Ema, M., Derivation of the health advisory guidance values for sub-acute exposure of drinking water, Society of Toxicology 55th Annual meeting, New Orleans, USA, March 2016.
- Hirose, A., Hirata-Koizumi, M., Kawamura, T., Matsumoto, M., Takahashi, M., Nishimaki-Mogami, T., Nishimura, T.,

Ema, M., and Ono, A., Derivation of subacute reference doses for drinking water quality management, The 51st EUROTOX2015, Porto, Portugal, September 2015.

Ono, A., Matsumoto, M., Takahashi, M., Kawamura, T., Hirata-Koizumi, M., and Hirose, A., Is a 14-day dose setting study able to predict its 28-day repeated dose toxicity?, The 51st EUROTOX2015, Porto, Portugal, September 2015.

G. 知的所有権の取得状況

G-1. 特許取得

特になし

G-2. 実用新案登録

特になし

G-3. その他

特になし